REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE 104 (4): 727-749; décembre 1997

Les espèces épigées du genre *Oritoniscus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). II. Le complexe *Oritoniscus bonadonai-pyrenaeus-remyi.*

Henri DALENS*, André ROUSSET*† & Didier FOURNIER**
*Laboratoire d'Ecologie des Invertébrés terrestres, UMR-CNRS 5552
** Laboratoire d'Entomologie
Université Paul Sabatier 118, route de Narbonne
F-31062 Toulouse Cedex / France

Studies on epigean species of the genus *Oritoniscus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). II. The *Oritoniscus bonadonai-pyrenaeus-remyi* complex. - Epigean species of the genus *Oritoniscus* which lack obvious male sexual characters on peraeopods II and III are described or redescribed using morphological features and molecular markers. These approaches give convergent results. These species may be separated in three groups: the first consisting of *O. bonadonai* Vandel,1948, the second including *O. simplex* Vandel, 1957 and *O. pyrenaeus* (Racovitza,1907), and the third including *O. remyi* Dalens 1964, *O. aurensis* sp.n. and *O. baroussensis* sp.n.

Key-words: Isopoda - Oniscidea - *Oritoniscus* - Morphology - RAPD-PCR.

INTRODUCTION

Le groupe des espèces épigées de l'isopode terrestre du genre *Oritoniscus* a été retenu comme l'un des modèles d'une étude portant sur la distribution et l'origine des zones de haut endémisme en Europe de l'Ouest. Dans une première note (DALENS *et al.* 1996) nous avons montré que parmi les 4 espèces alors connues (*O. bonadonai*, *O. flavus*, *O. pyrenaeus* et *O. remyi*) l'une d'elles, *O. flavus*, s'individualisait par une différenciation très poussée des caractères sexuels secondaires mâles au niveau des péréiopodes II et III et qu'elle était en fait un complexe de 3 taxons dont nous avons, au moyen de critères morphologiques et moléculaires, établi la valeur spécifique.

Le présent travail est consacré à la description ou à la redescription de six espèces ne montrant aucune différenciation au niveau des péréiopodes mâles II et III. Il s'agit des 3 espèces *O. bonadonai*, *O. pyrenaeus* et *O. remyi* déjà citées auxquelles s'ajoutent *O. simplex* et 2 espèces nouvelles: *O. aurensis* et *O. baroussensis*. Leurs relations phénétiques sont précisées par l'étude du polymorphisme de leur ADN génomique au moyen de la méthode RAPD-PCR.

Manuscrit accepté le 16.04.1997.

Abbréviations utilisées dans le texte :

Cne Commune;

MNHN Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris;

RAPD-PCR random amplified polymorphic DNA - polymerase chain reaction.

MATERIEL ET METHODES

Morphologie - Le matériel étudié provient essentiellement de récoltes effectuées par les deux premiers auteurs dans la chaîne pyrénéenne et dans le département du Var. S'y ajoutent des échantillons de la collection Vandel et occasionnellement du matériel légué par d'autres collecteurs. Par ailleurs, exception faite d'*O. bonadonai* et d'*O. pyrenaeus* dont les habitus sont caractéristiques et permettent une discrimination sûre des espèces dans les deux sexes, il n'est pas possible, dans le cas de mélanges d'espèces en une même station, de parvenir à une détermination fiable des femelles, aussi ne donnerons-nous à la fois le nombre de mâles et de femelles que dans le cas de récolte monospécifique.

Dans l'étude précédente, nous avions utilisés trois méthodes: morphologie, polymorphismes enzymatique et moléculaire. Au vu des résultats obtenus précédemment avec le groupe *O. flavus* et, compte tenu du fait qu'il ne s'agit plus dans le cas présent d'espèces sympatriques, conjointement à l'approche morphologique, nous avons préféré privilégier l'étude du polymorphisme de l'ADN génomique au moyen de la méthode de marqueurs moléculaires générés par RAPD-PCR.

Pour chacune des six espèces, l'analyse porte sur des individus mâles originaires d'une même localité. Les spécimens sont maintenus vivants en élevage ou conservés en azote liquide (-196°C) de préférence à l'alcool 95° qui s'est révélé inadéquat au delà de quelques jours. Extraction et amplification de l'ADN sont conduites comme indiqué dans notre précédent travail, avec toutefois une quantité d'enzyme Taq Polymérase fortement augmentée (1,3 unités dans 25 ml de volume de réaction). La reproductibilité est contrôlée par double expérimentation. Sur vingt amorces décamériques testées, quatre ont montré des bandes bien réparties et bien amplifiées
(A03 : 5'AGTCAGCCAC; A04 : 5'AATCGGGCTG3'; A11 : 5'CAATCGCCGT3'; A19 : 5'CAAACGTCGG3') et ont été retenues pour les analyses.

Analyse des données - Les différents fragments d'ADN séparés sur les gels peuvent être utilisés comme marqueurs pour détecter de façon globale les variations génétiques.Deux types de calculs ont été sélectionnés :

- Index de dissimilarité (**APD**) - Nous avons suivi le mode de calcul de la moyenne des différences entre individus (exprimé en pourcentage) indiqué par GILBERT *et al.*, (1990) et par YUHKI & O'BRIEN (1990) : **PD** (percent difference) = (V_{AB} / F_A+F_B) x 100, où V_{AB} est le nombre total de fragments différents entre deux individus, F_A est le nombre de fragments résolus dans l'individu A et F_B le nombre de fragments dans B ; **APD** (Average percent difference) = 1/C Σ PD, où C est le nombre de comparaisons des individus pris deux à deux dans la population étudiée.

- Index de similarité - celui défini par NEI & LI (1985) sera utilisé. La mesure de la similitude entre individus s'effectue en déterminant le pourcentage de présence (ou

absence) simultanée d'une bande chez deux individus selon la formule : **S** = 2 N_{AB} / N_A + N_B où N_{AB} est le nombre de bandes partagées, N_A et Nb étant les nombres de chacun des individus.

La mesure des distances génétiques est effectuée par la méthode UPGMA (unweighted pair-group method of arithmetic averages) en utilisant les mêmes programmes informatiques que dans notre étude précédente. Ces programmes permettent en outre une évaluation graphique des relations phénétiques entre les différentes unités taxonomiques étudiées.

RESULTATS

Etude morphologique

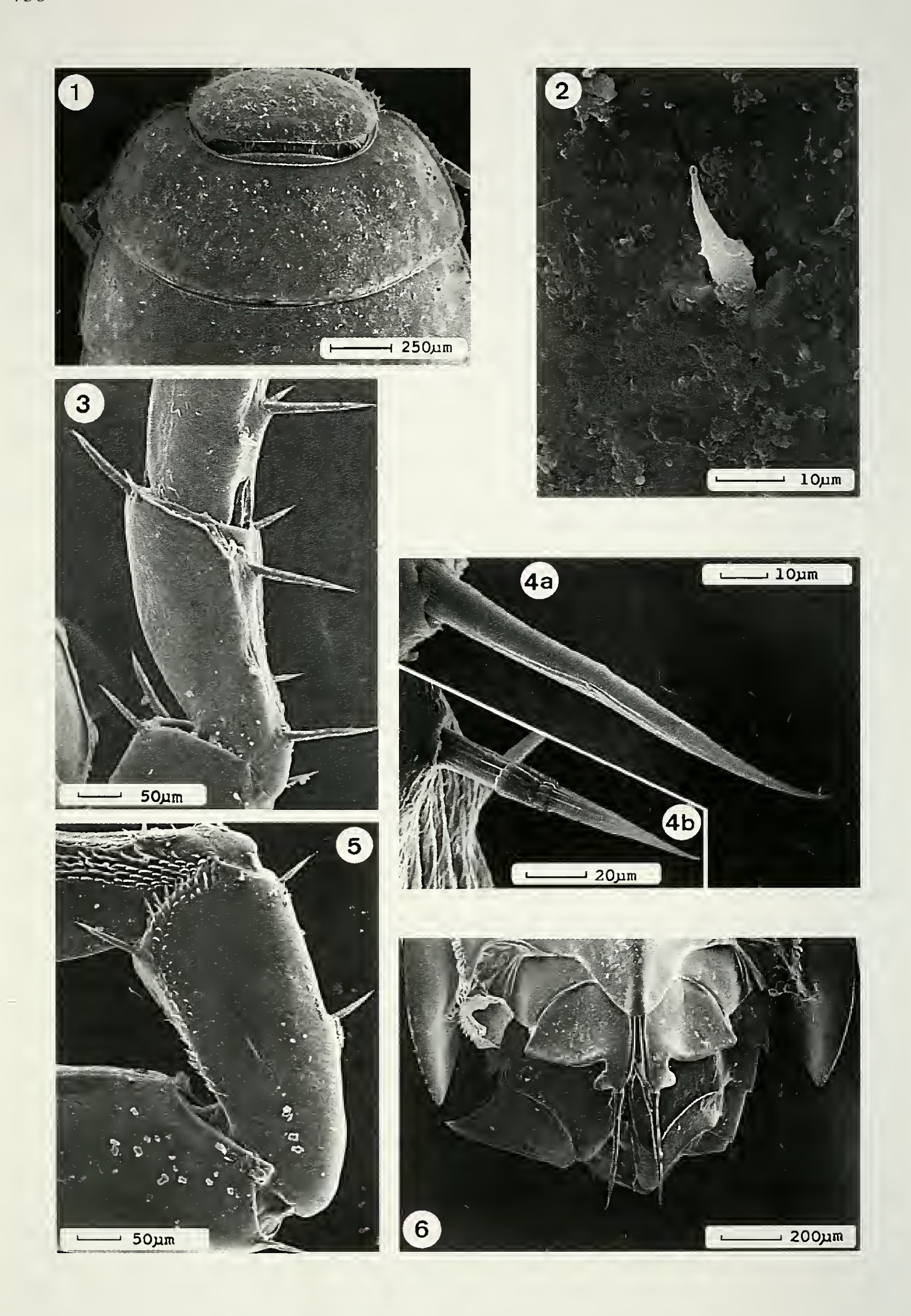
Oritoniscus bonadonai Vandel, 1948 Figs 1-6

Oritoniscus bonadonai Vandel, 1948: 8, figs. 1-4
Oritoniscus bonadonai; Vandel 1960: 185, fig. 82

Matériel examiné: syntypes de la Collection Vandel du MNHN: Cne de Chateaudouble (Var); Baume Pouteri, 09/02/1946: 28♂♂, 25 ♀♀; 26/03/1949: 28♂♂, 55♀♀ -- Hameau de Rebouillon sur les bords d'un petit affluent de la Nartuby, 01/05/1946: 3♂♂, 6♀♀ -- aven du Mouret, 23/06/1946: 1♀;

Coll. Dalens: Cne de Chateaudouble (Var); Baume Pouteri (= grotte des Chauves-souris), alt. 449m, 30-31/04/1996: 86♂♂, 172♀♀ -- aven du Mouret à Rebouillon, 05.1996 A. Franco leg: 1♂, 1♀.

Description: les tailles maximales observées ont été de 5 mm pour un mâle et de 6,6 mm pour une femelle; dans la très grande majorité des cas cependant les mâles ne dépassaient pas 4,2 mm et les femelles 5,8 mm. C'est certainement la plus petite des espèces épigées du genre *Oritoniscus*. La coloration rose carminé est assez typique de l'espèce. Elle est uniformément répartie sur tout le corps y compris les pleurépimères et seules les insertions musculaires apparaissent un peu plus pâles. L'oeil est formé d'un ocelle unique de couleur foncée et bien apparent sur l'animal vivant. Sur l'animal fixé en alcool ou examiné au microscope électronique à balayage seul le bombement de la carapace à son niveau permet de le repérer, le revêtement cuticulaire du vertex recouvrant sa surface comme cela avait déjà été observé sur les trois espèces du groupe *O. flavus* et comme cela sera également le cas pour les cinq autres espèces qui suivent. L'antennule peut porter 10 aesthétascs apicaux flanqués d'une courte épine. Flagelle antennaire de 8 articles subégaux à l'exception du second sensiblement deux fois plus long que les autres et portant 11 à 12 aesthétascs. Les téguments sont lisses et garnis de soies simples et courtes (figs 1-2). En ce qui concerne les caractères sexuels mâles, ils concernent peu les péréiopodes qui restent assez indifférenciés. Seule l'épine sternale de la base du méros V amorce un début de différenciation marqué par un très léger sillon transversal et médian (figs 3-4a) qui, chez un individu de 5mm, s'est révélé plus accusé (fig 4b). La soie sterno-distale de l'ischion VI s'insère aussi bien chez le mâle que chez la femelle directement sur le corps de l'appendice (fig. 5). Au niveau des pléopodes de la première paire (fig. 6) l'exopodite présente un bord externe à concavité



FIGS 1- 6 - *Oritoniscus bonadonai.* 1: tergite I; 2: détail du revêtement cuticulaire du tergite I; 3: méros V ♂; 4: détail de la soie sterno-basale du méros, 4a: morphotype général, 4b: morphotype d'un ♂ de 5mm; 5: ischion VI ♂; 6: pléopodes 1 ♂; (clichés H. Dalens sur Hitachi S-450).

distale à peine esquissée, et un lobe interne prolongé par une forte tige se terminant par une pointe fine et courte.

Répartition : Cette espèce paraît uniquement présente dans le sud-est de la France, dans le département du Var. Elle semble restreinte au petit massif calcaire environnant Chateaudouble. Une population relativement dense existe dans la grotte des Chauves-souris; la capture de quelques individus dans l'aven du Mouret indique ou bien que la population y est peu dense, ou bien que le lieu de capture est marginal, le noyau de la population se trouvant dans une partie non explorée ou inaccessible. Malgré une prospection étendue aux massifs calcaires voisins (Draguignan - Chateaudouble - Tourtour - Salernes), l'espèce n'a pas été retrouvée dans les cavités visitées. L'espèce semble donc très localisée, ce qui semble confirmer l'opinion de VANDEL (1960) selon laquelle pour cette espèce "Il s'agit de toute évidence d'une relicte".

Oritoniscus simplex Vandel, 1957 Figs 7-12

Oritoniscus flavus simplex Vandel, 1957: 92, fig. 1A
Oritoniscus flavus simplex; VANDEL 1960: 189, fig. 84D

Lorsqu'il décrit ce taxon, VANDEL en fait une sous-espèce d'*O. flavus* dont selon lui elle ne diffère du type «..que par l'absence de différenciation sexuelle propre aux péréiopodes». Il ne désigne par contre, ni holotype, ni localité type. L'examen des échantillons présents dans sa collection sous la dénomination *flavus simplex*, montre qu'il s'agit dans la quasi totalité des cas, d'échantillons appartenant en fait à l'espèce *Oritoniscus remyi* Dalens, 1964. Le seul échantillon exploitable correspondant sensiblement à sa description est référencé 954 avec la date du 23.VIII.1919 sans aucune autre indication de provenance. Comme il ne semble manifestement pas s'agir en ce cas d'une référence Biospeologica, nous avons été amenés à choisir un topotype dans une population récoltée par nous même et provenant d'une localité située dans une région citée par Vandel comme hébergeant *flavus simplex*. Nous avons retenu la station d'Arrec d'Er sur la commune de Laruns en vallée d'Ossau dont les échantillons récoltés par nous mêmes correspondent à quelques détails près à la description donnée par VANDEL (1948, 1960) de la sous-espèce *O. flavus simplex*. En fait, si l'on s'en tenait strictement à la description donnée par VANDEL pour cette sous-espèce, aucune des espèces retrouvées dans les Pyrénées n'y correspond parfaitement. Celle à qui nous attribuons le nom spécifique de *simplex*, est toutefois celle qui s'en rapproche le plus.

Matériel examiné: Topotype (MNHN-IS 5066): 1 ♂ provenant d'Arrec d'Er sur la D.934, Cne de Laruns (Hte-Pyrénées), alt. 960m, UTM 709300/4754150, 14/11/1995 Dalens & Rousset réc.;

PYRÉNÉES-ATLANTIQUES: Cne d'Arudy, source de Sépé, alt.420m, 03/10/1995: 1♂, 6♀♀; Cne de Barcus, abreuvoir Barcus, alt.360m, 25/09/1995: 9♂♂, 3♀♀; Cne de Béost, cirque du Litor, alt.1360m, 14/11/1995: 5♂♂, 11♀♀ -- Pont de Lagnères, alt.1565m, 14/11/1995: 3♂♂, 2♀♀; Cne de Bielle, Le Bourdalat, alt.540m, 04/06/1996: 48♂♂, 44♀♀ -- pont de Bilhères, alt.760m, 04/06/1996: 17♂♂ -- route Ariou-Mage, alt.720m, 04/06/1996: 3♂♂, 1♀ -- ruisseau de Hourdenette, alt.940m, 14/11/1995: 2♂♂; Cne de Bilhères, sources sur la D294, alt.889m, 03/10/1995: 3♂♂, 4♀♀; 14/11/1995: 20♂♂; 04/06/1996: 2♂♂; Cne des Eaux-Bonnes, Gourette parking, alt.1350m, 14/11/1995: 1♂ -- Hôtel "Crêtes Blanches", alt.1525m, 14/11/1995:

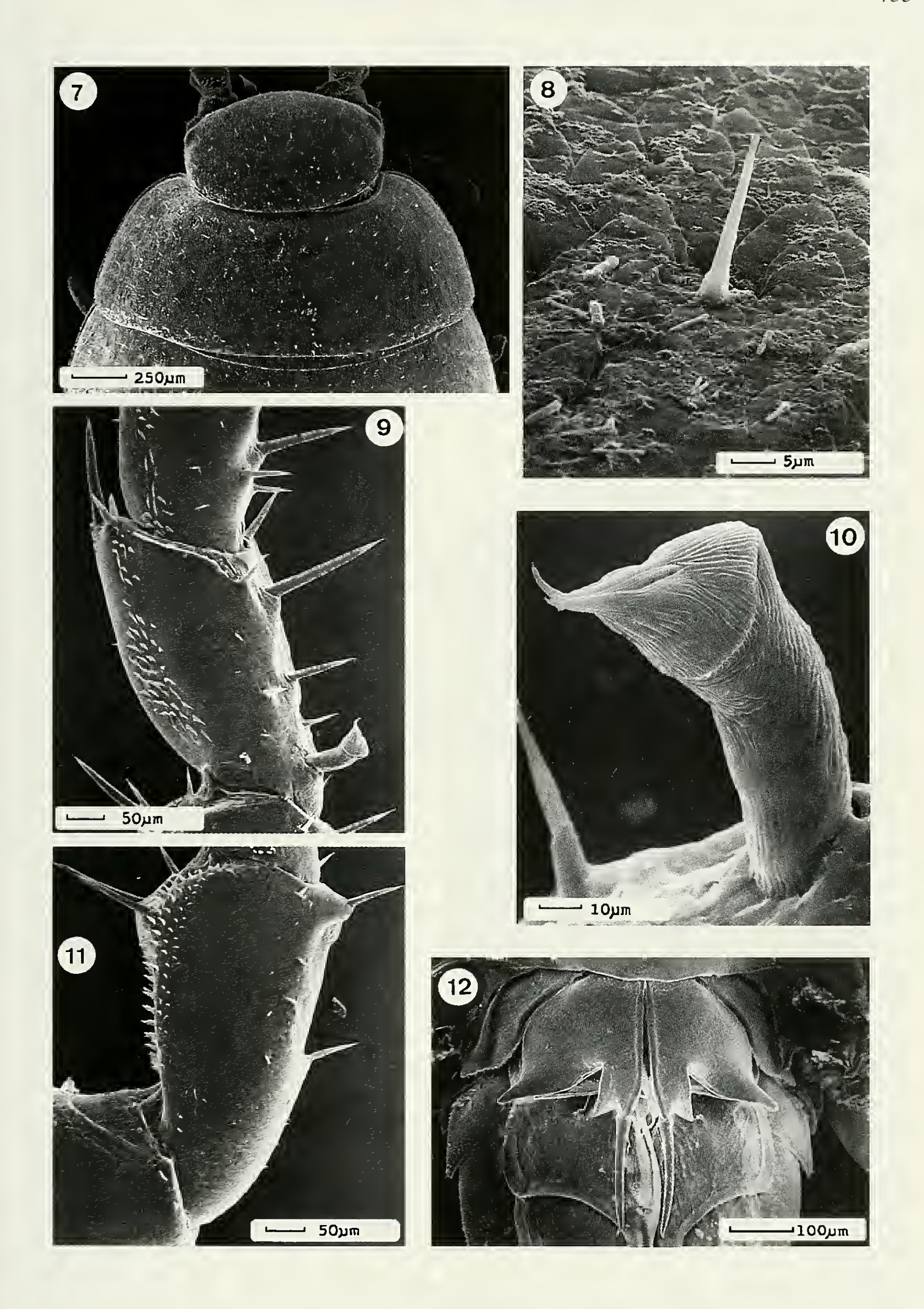
11♂♂, 7♀♀-- prise d'eau d'Iscoo, alt.820m, 14/11/1995: 6♂♂ -- route sortie Gourette, alt.1440m, 14/11/1995: 3♂♂, 4♀♀; Cne de Laruns, Arrec d'Err, alt.960m, 03/10/1995: 21♂♂; 14/11/1995: 144♂♂ -- barrage de Fabrèges, alt.1225m, 03/10/1995: 4♂♂. 10♀♀; Cne de Lescun, Borde d'Orrum, alt.850m, 03/10/1995: 2♂♂ -- Borde de Casaux, alt.820m, 03/10/1995: 1♂♂, 5♀♀; HAUTES-PYRÉNÉES: Cne d'Aucun, Bois de la Plape, alt.1260m, 14/11/1995: 24♂♂, 29♀♀; Cne de Bagnères de Bigorre, Lesponne ruisseau du Hour, alt.1135m, 08/10/1996: 1♂ -- Lesponne source B2, alt.960m, 08/10/1996: 29♂♂; Cne de Cauterets, Le Limaçon, alt.760m, 06/07/1995: 4♂♂; 18/08/1996: 7♂♂; Cne de Ferrières, carrière Rachou, alt.1090m, 14/11/1995: 21♂♂, 19♀♀ -- ruisseau de Sarradet, alt.1100m, 14/11/1995: 7♂♂; Cne de Gez, ruisseau de Inglès, alt.770m, 14/11/1995: 8♂♂.

Description: Les tailles les plus grandes observées ont été de 6,1 mm pour les mâles et 6,6 mm pour les femelles. La coloration est rouge brun, d'autant plus foncé en règle générale que l'animal est de plus grande taille. Cette coloration est un peu plus claire au niveau de la limite des tergites et des pleurépimères. Appareil oculaire formé d'un ocelle pigmenté bien apparent sur le vivant. Antennule avec 9 à 10 aesthétascs apicaux. Flagelle antennaire de 6 articles pas toujours très distincts les uns des autres à l'observation en microscopie optique; le second article qui porte 7 aesthétascs est nettement plus long que les autres qui paraissent sub-égaux . Les téguments sont lisses et garnis de soies simples (figs 7-8). En ce qui concerne les caractères sexuels mâles des péréiopodes, ils sont chez cette espèce plus marqués. L'épine sternale de la base du méros V est nettement différenciée (figs 9-10) tandis que la soie sterno-distale de l'ischion VI est portée par un tubercule basal bien développé (fig. 11) qui n'existe pas chez la femelle. L'exopodite des pléopodes de la première paire du mâle (fig. 12) est à bord externe plutôt convexe mais ce dernier présente sur sa région distale une courbure concave plus marquée que chez *O. bonadonai* et qui individualise un lobe postéro-externe. Le lobe interne est, tout comme chez *O. bonadonai*, prolongé par une forte tige qui se termine par une pointe fine et courte.

Répartition: VANDEL (1960) avait attribué à ce qu'il considérait alors comme une sous-espèce d'*O. flavus* une répartition assez vaste notamment dans la partie occidentale de la chaîne pyrénéenne. Nombre de ces stations se sont révélées correspondre en fait à l'espèce *O. remyi*. Il est donc nécessaire de revoir l'ensemble de la zone de répartition de cette espèce, et les citations qui s'y réfèrent, notamment en ce qui concerne l'Espagne. Pour notre part les observations que nous avons conduites jusqu'ici nous permettent d'affirmer que dans les Pyrénées françaises, l'espèce est bien présente dans les bassins versants des vallées d'Aspe, d'Ossau, de l'Ouzom et du Gave de Pau. Sa répartition doit probablement s'étendre encore plus à l'ouest, comme semble en témoigner la station de Barcus.

Oritoniscus pyrenaeus (Racovitza,1907) Figs 13-17

Trichoniscoides pyrenaeus Racovitza,1907:160, figs 41-77
Trichoniscus (Oritoniscus) pyrenaeus; RACOVITZA 1908: 330
Oritoniscus pyrenaeus; VANDEL 1933: 46
Trichoniscus (Oritoniscus) pyrenaeus; ARCANGELI 1935: 185, fig. 3
Oritoniscus pyrenaeus; VANDEL 1946: 12
Oritoniscus pyrenaeus; VANDEL 1960: 193, fig. 86
Oritoniscus pyrenaeus; SCHMÖLZER 1971: 13, 80, 141
Oritoniscus pyrenaeus; LEBRETON & BESSON 1984
Oritoniscus pyrenaeus; CRUZ 1992

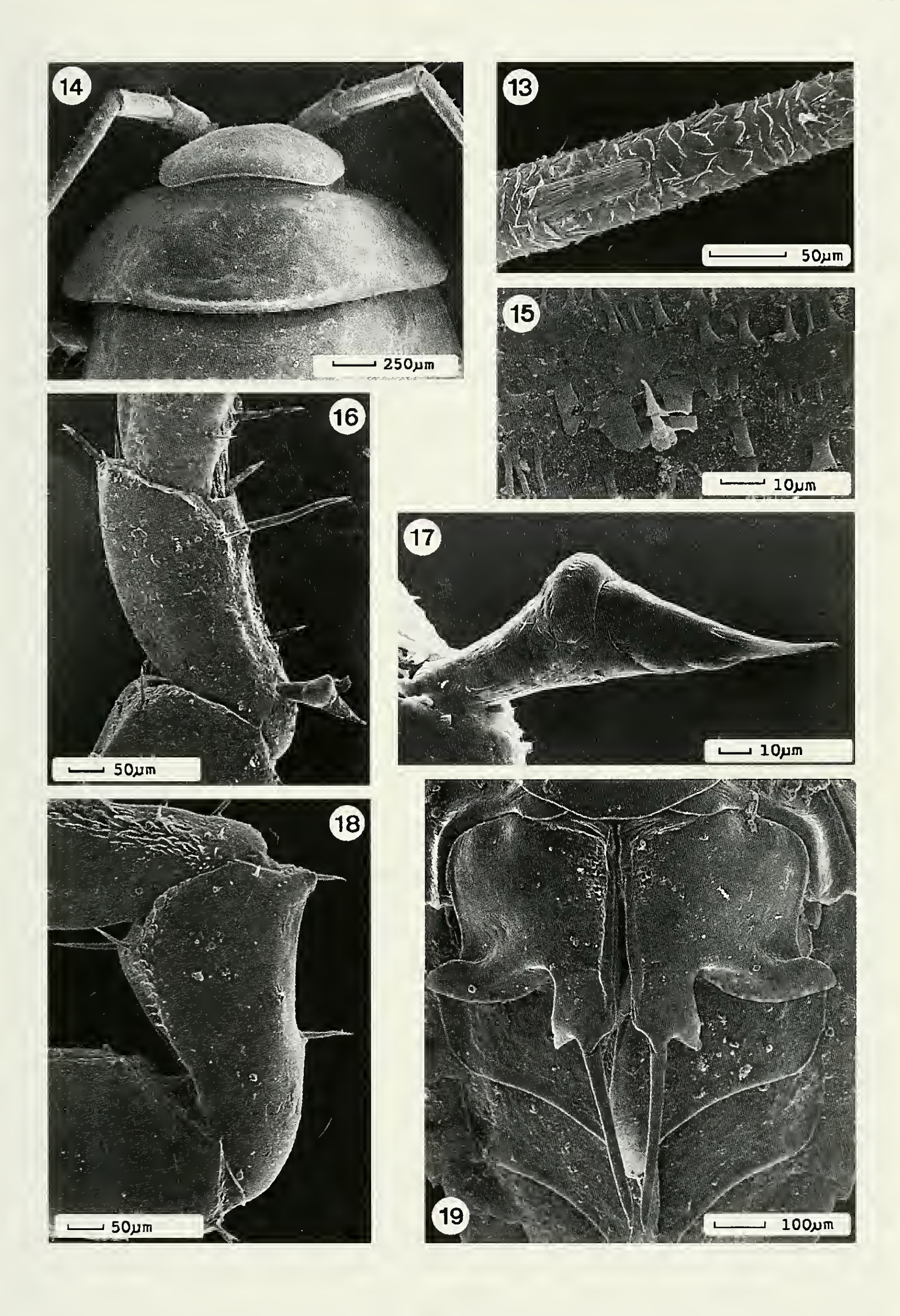


FIGS 7-12 - *Oritoniscus simplex*. 7: tergite I; 8: détail du revêtement cuticulaire du tergite I; 9: méros V ♂; 10: détail de la soie sterno-basale du méros V; 11: ischion VI♂; 12: pléopodes 1 ♂; (clichés H. Dalens).

Matériel examiné: Collection Vandel: PYRÉNÉES-ATLANTIQUES, Cne de St-Engrâce, grotte de Kakouetta (Biosp. 235) 12/8/1908: 13♂♂, 20♀♀ - Kakouetta, 7/1952: 1♂ - grotte au lac dans les gorges de Kakouetta, 9/9/1964: 3♀♀; Cne de Lanne, grotte des Voleurs à Barlanes, 16/8/1946: 1♂; 14/2/1947: 5♀♀; 20/4/1949: 2♂♂, 2♀♀ -- Clothe de Haout , 21/10/1947: 1♂, 3♀♀; Cne de Larrau, grotte d'Ayssagues, 9/1952: 1♂, 2♀♀; 27/11/1952: 3♂♂, 4♀♀; Cne de Rébénacq, Oueil de Neez, 21/10/1941: 1♀; Cne d'Arette, grotte d'Ambielle, 21/10/1946: 1♂, 5♀♀; Cne de Lescun, 8/1950: 50♂♂, 99♀♀; ESPAGNE, Villanuà, partido de Jaca, prov. de Huesca, Cueva de las Guixas, 23.VII.1914 (Biospéol. 784): 16♂♂, 2♀♀.

Collection Dalens: PYRÉNÉES-ATLANTIQUES: Cne d'Accous, grotte de la Cuerde (= grotte de l'Aygue), 1/9/1993 Besson leg: 2♂♂, 2♀♀; Cne d'Arudy, source d'Anglars, alt.490m, 03/10/1995: 1♂, 1♀ -- source de Sépé, alt.420m, 03/10/1995: 1♂, 3♀♀; Cne de Bielle, Le Bourdalat, alt.540m, 04/06/1996: 54♂♂, 52♀♀ -- ravin d'Artigasse, alt.940m, 03/10/1995: 1♀ -- pont de Bilhères, alt.760m, 04/06/1996: 2♂♂, 8♀♀ -- ruisseau de Hourdenette, alt.940m, 03/10/1995: 7♂♂, 10♀♀; 14/11/1995: 1♀ -- Sources du Turon de Técouère, alt.950m, 03/10/1995: 3♂♂ -- grotte du col d'Aran, alt.1650m, 18/8/1993, Besson leg: 1♂, 1♀; Cne de Bilhères, Arroust sur la route D294 muret, alt.690m, 03/10/1995: 1♀ -- col de Marie Blanque, alt.1000m, 03/10/1995: 3♂♂, 2♀♀; 14/11/1995: 27♂♂, 45♀♀; 04/06/1996: 61♂♂, 133♀♀ -- sources au bord de la D294, alt.889m, 03/10/1995: 3♂♂, 1♀; 14/11/1995: 4♂♂, 3♀♀; 04/06/1996: 1♂; Cne des Eaux-Bonnes, prise d'eau d'Iscoo, alt.820m, 14/11/1995: 3♀♀; Cne d'Izeste, carrière de marbre, alt.470m, 03/10/1995: 1♂, 1♀ -- grotte de Sespiau, puits, alt.470m, 03/10/1995: 2♂♂, 3♀♀; 14/12/1991, Besson leg: 1♂; Cne de Lescun, ruisseau de Serrelongue, alt.675m, 03/10/1995: 2♂♂ -- vallée de Lhers (bois), alt.845m, 03/10/1995: 4♀♀; Cne de St-Engrâce, grotte des Lacs dans les gorges de Kakouetta, 21/4/1984, Deharveng leg: 1♂, 1♀; HAUTES-PYRÉNÉES: Cne d'Arbéost, source Malacau, alt.720m, 15/11/1995: 1♂, 1♀; LANDES: Cne de Seignanx, grotte Audin n°8, 26/09/1983, Lebreton leg: 1♂.

Description: Les tailles maximales observées ont été de 6,1 mm pour les mâles et de 7 mm pour les femelles. La coloration gris-brun tirant parfois un peu sur le violet ainsi que le pattern de coloration sont typiques et permettent au premier coup d'oeil de reconnaître cette espèce qui par ailleurs est celle dont le corps est le moins convexe. Sur le péréion, la région médiane est largement décolorée, mais à des degrés variables suivants les individus et les populations. Cette zone médiane est latéralement encadrée par deux bandes foncées. Les pleurépimères sont très décolorés mais sont par contre fortement pigmentés sur leur bord externe. Le pléon est nettement pigmenté avec parfois une intensité moindre sur la ligne médiane. Antennes, péréiopodes et pléopodes sont également pigmentés. L'appareil oculaire est formé d'un ocelle pigmenté bien apparent sur l'animal vivant. L'antennule porte 8 aesthétascs apicaux flanqués d'une courte épine. Le flagelle antennaire possède 7 articles très peu distincts les uns des autres et recouverts de soies écailles très apparentes (fig. 13); le second nettement plus long que les autres porte une dizaine d'aesthétascs. Téguments lisses, garnis de soies simples (figs 14-15). Les cinq premiers péréionites présentent légèrement en avant du bord postérieur du tergite une ride en relief qui s'arrête au niveau des pleurépimères. Cette différenciation se réalise par ailleurs suivant un gradiant antéro-postérieur décroissant, et la ride est d'autant plus apparente que l'animal est de plus grande taille. Au niveau des péréiopodes un dimorphisme sexuel net existe au niveau de la soie basale et sternale du méros V (fig.16-17) laquelle est chez le mâle très nettement hypertrophiée et coudée vers la partie basale de l'appendice. On relève par ailleurs la différenciation d'un tubercule qui porte la soie sternale et distale de l'ischion VI (fig. 18). Au niveau des pléopodes on note, sur l'exopodite de la première paire du mâle (fig.



FIGS 13-19 - *Oritoniscus pyrenaeus.* 13: second article du flagelle antennaire; 14: tergite I; 15: détail du revêtement cuticulaire du tergite I; 16: méros V♂; 17: détail de la soie sterno-basale du méros V; 18: ischion VI♂; 19: pléopodes 1♂; (clichés H. Dalens).

19) la présence d'un lobule nettement séparé du reste de l'appendice. Ce lobule qui, chez tous les autres *Oritoniscus*, n'est jamais détaché permet également une discrimination rapide et fiable sans dissection de l'échantillon.

Répartition : A ce jour, nos propres récoltes confirment l'aire de répartition définie par VANDEL (1960) pour cette espèce. On peut semble-t-il parler d'un endémique ou d'une espèce relicte dont l'aire de répartition dans les Pyrénées françaises semble se limiter à un territoire délimité à l'ouest par la vallée du Saison et à l'est par celle de L'Ouzum. Vers le sud et en Espagne sa présence n'est connue que des régions de Villanuà, Hécho et Anso, (RACOVITZA 1907; ARCANGELI 1935; CRUZ 1992) dans la haute vallée de l'Aragon. Au nord, les deux stations françaises du département des Landes (LEBRETON & BESSON 1984) où l'espèce a été retrouvée dans des grottes demandent une prospection renouvellée de cette région afin de vérifier s'il s'agit de stations relictes ou au contraire si l'espèce y est plus largement présente.

Oritoniscus remyi Dalens,1964 Figs 20-25

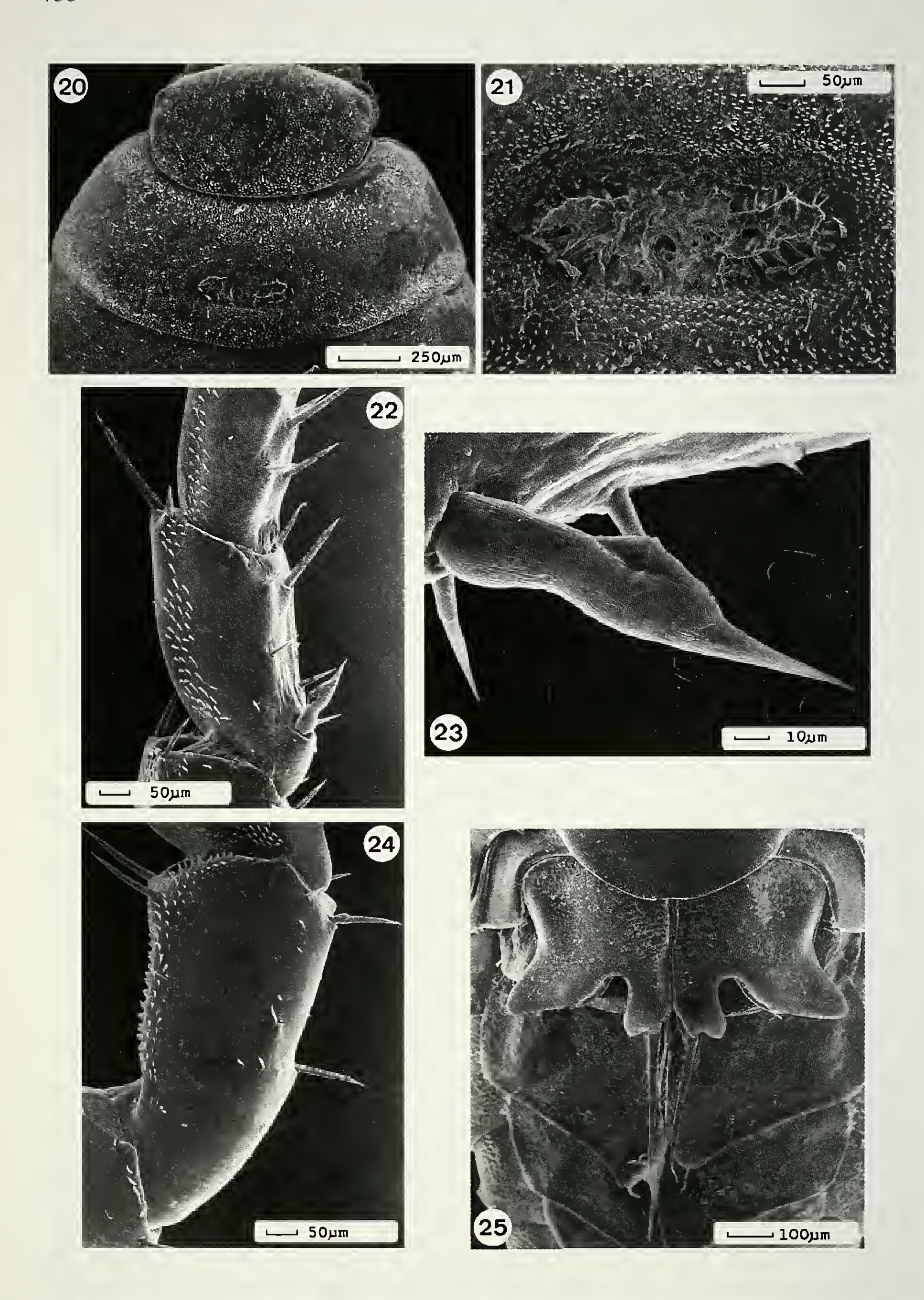
Oritoniscus remyi, Dalens, 1964: 286, figs 1-6
Oritoniscus remyi; DALENS 1973: 142, fig. 1
Oritoniscus remyi; CRUZ 1992: 97

Matériel examiné: Coll. Vandel: 24 tubes d'échantillons appartenant à cette espèce y figurent, 7 sous la dénomination *O. flavus* et 17 sous celle d'*O. flavus simplex*. Ils proviennent de l'ensemble de la chaine pyrénéenne française et en Espagne des provinces de Guipuzcoa, Navarre et Santander.

Coll. Dalens: PYRÉNÉES-ORIENTALES: Cne de Fenouillet, thalweg du Roc de Boucheville, alt.1065m, 24/10/1995: 88♂♂, 107♀♀ -- 23/09/1996: 35♂♂, 58♀♀; Cne de Prats-de-Mollo-La-Preste, La Barragagne (forêt), alt.1230m, 25/05/1994: 1♂ -- La Barragagne (vallon), alt.1200m, 25/05/1994: 24♂♂ -- La Preste D115, alt.1040m, 25/05/1994: 28♂♂ -- 07/09/1996: 8♂♂ -- ravin du col de Viel, alt.1190m, 25/05/1994: 2♂♂, 3♀♀; Cne de Vira: thalweg sur la route de Gincla, alt.758m, 24/08/1995: 7♂♂ -- Forêt de Boucheville, fontaine de Coulom, alt.1070m, 24/10/1995: 7♂♂ -- Forêt de Boucheville, Pont des Verriers, alt.780m, 24/08/1995: 2♂♂, 10♀♀ -- Forêt de Boucheville, Rond Point, alt.1020m, 24/08/1995: 4♂♂; -- 24/10/1995: 32♂♂; AUDE: Cne de Gincla: ruisseau Le Renard, alt.730m, 24/10/1995: 7♂♂; Cne de La Fajolle, col de Pradel, alt.1545m, 11/07/1996: 3♂♂ -- forêt de la Fontaine d'Argens, alt.1335m, 11/07/1996: 36♂♂; Cne de Roquefeuil: Fontaine de la Jasse, alt.880m, 17/10/1995: 16♂♂; ARIEGE: Cne d'Auzat, barrage de Soulcem (cascade), alt.1490m,13/06/1996: 2♂♂, 1♀; Cne de Bélesta, Fontaine de l'Ours - bois du Pinet, alt.895m, 17/10/1995: 6♂♂; Cne de Couflens, Les Neuf Fontaines, alt.990m, 02/06/1994: 1♂; Cne de L'Herm, Fontaine Sainte, alt.550m, 23/09/1996: 1♂; Cne de Montferrier, La Peyregarde (ruisseau), alt.920m, 17/10/1995: 1♂ -- La Peyregarde La Senaurié, alt.905m, 17/10/1995: 4♂♂, 8♀♀; Cne de Nescus, La Freyche, alt.450m, 28/06/1994: 5♂♂; Cne d'Orgeix, source de bas de vallée, alt.820m, 11/07/1996: 26♂♂; Cne de Sentenac-de-Sérou, ruisseau de Ruyère, alt.895m, 28/06/1994: 16♂♂; Cne de Taurignan-le-Vieux, résurgence de Touasse, alt.386m, 08/12/1994: 4♂♂; HAUTE GARONNE: Cne d'Oô, sentier du Lac d'Oô, alt.1230m, 19/06/1996: 4♂♂, 3♀♀; HAUTES-PYRÉNÉES: Cne d'Arrens-Marsous: entrée des mines d'Arrens, alt.1030m, 05/06/1996: 2♂♂, 7♀♀ -- Maison du Parc , alt.1470m, 05/06/1996: 14♂♂, 15♀♀; Cne de Bagnères-de-Bigorre, bois de Bayssou à Lesponne, alt.1300m, 08/10/1996: 1♂ -- ruisseau du Hour, alt.1135m, 08/10/1996: 9♂♂; Cne de Campan, ruisseau du Garet, alt.1350m, 08/10/1996: 5♂♂, 2♀♀; Cne de Cauterets, Le Limaçon, alt.760m, 06/07/1995: 2♂♂ -- Pont d'Espagne, alt.1410m, 06/07/1995: 6♂♂, 22♀♀ -- Thermes de Pauze, alt.1020m, 06/07/1995: 2♂♂ -- Val de Jéret, alt.1275m, 06/07/1995: 1♂♂, 7♀♀; Cne d'Esparros: ruisseau d'Artigaou, alt.520m, 21/09/1995: 3♂♂ -- Col de Couradabat, alt.980m,

21/09/1995: 1♂ -- écoulements sur schistes, alt.925m, 21/09/1995: 17♂♂, 31♀♀-- fontaine Caraillère, alt.930m, 21/09/1995: 4♂♂; Cne d'Estaing, source de l'Escale, alt.1235m, 05/06/1996: 12♂♂, 18♀♀; Cne de Ferrières: ruisseau de Sarradet, alt.1100m, 14/11/1995: 2♂♂; Cne de Gèdre, ruisseau de Biroulet, alt.1100m, 06/07/1995: 1♂; Cne de Hèches, Coureillou, alt.1044m, 11/01/1996: 2♂♂ -- Coureillou (talus sec), alt.1040m, 11/01/1996: 10♂♂, 12♀♀; Cne de Labastide, D26 captage, alt.700m, 21/09/1995: 2♂♂; Cne de Nistos, col de Mènes (ruisseau), alt.1170m, 21/09/1995: 10♂♂, 20♀♀; Cne de Sost, bois de Coste Dorade (source), alt.920m, 07/06/1995: 1♂; PYRÉNÉES-ATLANTIQUES: Cne d'Accous, vallée de Lhers, alt.1035m, 03/10/1995: 2♂♂, 3♀♀; Cne d'Arudy, source d'Anglars, alt.490m, 03/10/1995: 10♂♂, 12♀♀; Cne de Bielle, Le Bourdalat, alt.540m, 04/06/1996: 4♂♂, 5♀♀ -- ravin de la Hourdenette (talus), alt.980m, 03/10/1995: 6♂♂, 8♀♀, -- pont de Bilhères, alt.760m, 04/06/1996: 9♂♂ -- ruisseau de Hourdenette, alt.940m, 03/10/1995: 22♂♂, 11♀♀; 14/11/1995, 8♂♂ -- Sources du Turon de Técouère, alt.950m, 03/10/1995: 2♂♂, 3♀♀; Cne de Bilhères, Arroust muret sur la D294, alt.690m, 03/10/1995: 43♂♂, 67♀♀; 14/11/1995: 31♂♂, 59♀♀ -- Arroust, fontaine sur la D294, alt.700m, 14/11/1995: 21♂♂, 24♀♀; 04/06/1996: 18♂♂, 7♀♀ -- col de Marie Blanque, alt.1000m, 14/11/1995: 1♂; 04/06/1996: 3♂♂, 4♀♀ -- sources sur la D294, alt.889m, 03/10/1995: 1♂; 14/11/1995: 12♂♂; 04/06/1996: 5♂♂; Cne des Eaux-Bonnes, prise d'eau d'Iscoo, alt.820m, 14/11/1995: 2♂♂; Cne d'Izeste, carrière de marbre, alt.470m, 03/10/1995: 16♂♂, 12♀♀ -- grotte de Sespiau (extérieur), alt.470m, 03/10/1995: 9♂♂, 9♀♀; Cne de Laruns, Ayguebères, alt.960m, 03/10/1995: 1♂; 14/11/1995: 11♂♂; Cne de Lescun, Borde d'Orrum, alt.850m, 03/10/1995: 5♂♂, 20♀♀ -- Borde de Savoye, alt.830m, 03/10/1995: 3♂♂, 12♀♀ -- ruisseau de Labrenère, alt.798m, 03/10/1995: 20♂♂, 15♀♀ -- ruisseau de Serrelongue, alt.675m, 03/10/1995: 2♂♂ -- vallée de Lhers (bosquet), alt.845m, 03/10/1995: 3♂♂, 3♀♀; ESPAGNE: Prov. de Cantabria, 16-18/05/1996 -- Municipal d'Arredondo, entrée de la Cueva del Molino, alt.210m, 1♂ -- entrée de la cueva de la Cubera, alt.168m, 2♂♂ 2♀♀ -- Municipal de Ramales de la Victoria, entrée de la Cueva de la Cullalvera, alt.100m, 1♂ 1♀ -- Col de los Tornos, alt.940m, 2♂♂ -- Municipal de Riba, entrée de la Cueva de la Codisera, alt.140m, Deharveng/Bedos réc., 1♂, 1♀; Prov. de Burgos, 16-18/05/1996 -- Municipal de Soncillo, Puerto de Carralès, alt.960m, 17♂♂ 11♀♀.

Description: Les tailles maximales observées ont été celles de 6,8 mm pour un mâle et de 7,1 mm pour les femelles. Coloration violet intense, uniformement répartie, mais laissant deviner les insertions musculaires qui apparaissent légèrement plus pâles et la limite tergite -pleurépimère qui est un peu moins intensement colorée. Péréiopodes légèrement pigmentés. Appareil oculaire formé d'une ommatidie fortement pigmentée et bien apparente sur l'animal vivant. Téguments lisses parsemés de soies simples et courtes. Antennule avec 12 aesthétascs apicaux. Flagelle antennaire pouvant avoir jusqu'à 7 articles peu distincts, le second nettement plus long que les autres portant 6 aesthétascs. Chez le mâle le péréion porte sur le tergite I une fossette médio-centrale allongée dans le sens transversal (figs 20-21). Le bord postérieur de ce même tergite est par ailleurs très légèrement sinué sur ses parties latérales. Chez le mâle immature la plage pilifère centrale est plus ou moins visible, mais la dépression est dès le début de sa différenciation, allongée dans le sens transversal. Au niveau des péréiopodes le dimorphisme sexuel se traduit sur le méros V qui présente une soie sterno-basale hypertrophiée mais non coudée (figs 22-23). Par contre la soie sterno-distale s'insère directement sur l'ischion VI (fig.24) sans l'intermédiaire de tubercule. Les pléopodes 1 (fig.25) ont un exopodite à bord externe concave différenciant une pointe postero-externe bien individualisée; le lobe interne se prolonge comme chez les espèces précédentes par une tige qui se termine en une pointe longue et fine.



FIGS 20-25 - *Oritoniscus remyi*. 20: tergite I du ♂; 21: détail de la fossette; 22: méros V♂; 23: détail de la soie sterno-basale du méros V; 24: ischion VI♂; 25: pléopodes 1♂; (clichés H. Dalens).

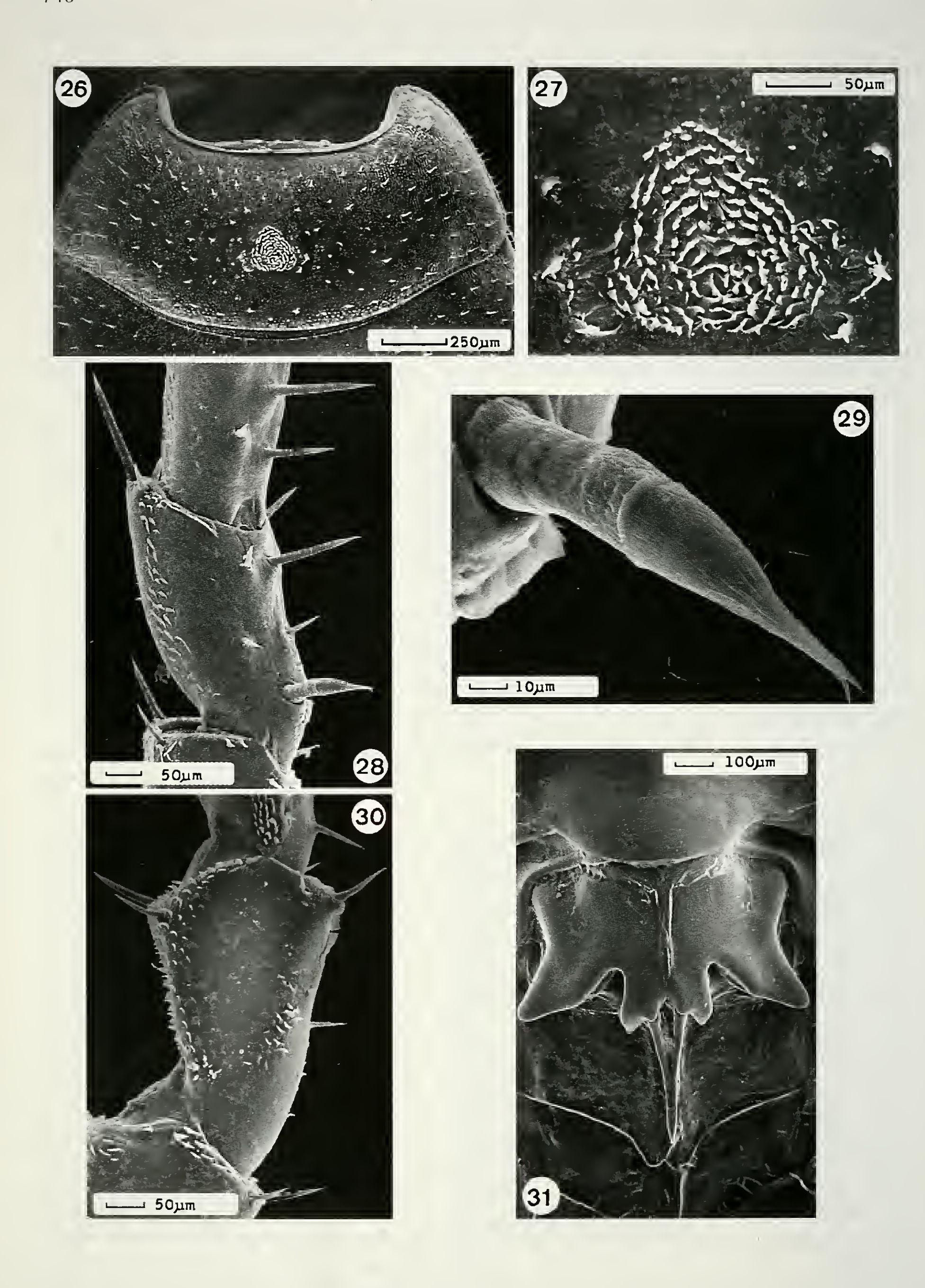
R é p a r t i t i o n : Cette espèce est celle qui, dans la chaîne pyrénéenne, a la plus vaste répartition, puisqu'on la trouve depuis les Pyrénées-Orientales à l'est jusqu'aux Pyrénées Atlantiques à l'ouest; en Espagne on la retrouve même encore plus à l'ouest dans la chaîne des Monts Cantabriques (DALENS 1973).

Oritoniscus aurensis sp. n. Figs 26-31

Matériel examiné: Holotype (MNHN-IS 5067): 1 mâle de Rioumajou, Ravin du Mont (source), Cne Saint-Lary-Soulan (Htes-Pyrénées), alt.1100m, 07/09/1995, Dalens & Rousset réc.

Collection Dalens: HAUTES-PYRÉNÉES : Cne d' Aragnouet, D929 pont de Couplan, alt. 1410 m, 07/09/1995: 58♂♂, 48♀♀ -- Orédon ruisseau l' Estaragne, alt.2100m, 7/09/1995: 1♂, 9♀♀ -- Pont de Badet, alt.1250m, 07/09/1995: 1♂ -- Pont de Moudang (cascade), alt. 1075m, 07/09/1995: 1♂; Cne d'Aspin-Aure, Serre du Mont d'Arreau, alt.790m, 23/06/1995: 19♂♂, 17♀♀; Cne d'Aulon, Le Castet pont sur le Lavédan, alt.1260m, 07/09/1995: 18♂♂, 18♀♀; Cne de Bordères-Louron, Artigue-Merly (ruisseau), alt.1015m, 23/06/1995: 1♂, 2♀♀ -- fontaine Bordères-Louron, alt. 885m, 23/06/1995: 64♂♂, 75♀♀; 11/01/1996: 103♂♂, 122♀♀ -- Ilhan (fontaine abreuvoir), alt.1085m, 23/06/1995: 7♂♂, 12♀♀ -- Médas, alt. 910m, 23/06/1995: 11♂♂, 21♀♀; Cne de Campan, route du col d'Aspin, alt.1195m ,08/10/1996: 2 ♂♂; Cne de Cazaux-Débat, bord de route D618, alt.760m, 23/06/1995: 25♂♂; Cne de Gouaux, fontaine de La Peyre, alt.990m, 23/06/1995: 3♂♂, 15♀♀ -- Ravin de Hougues (ruisseau), alt.1200m, 23/06/1995: 23♂♂, 23♀♀ -- source point coté 1409, alt.1409m, 23/06/1995: 5♂♂, 10♀♀; Cne de Guchen, vallée d'Aulon (source du Bosquet), alt.1075m, 07/09/1995: 85♂♂, 73♀♀; 11/01/1996: 51♂♂, 59♀♀; Cne de Loudervielle, près de la source Balestas, alt.1600m, 19/06/1996: 1♂, 9♀♀ -- source Hangasses, alt.1395m, 19/06/1996: 17♂♂, 22♀♀; Cne de Saint-Lary-Soulan, Rioumajou Escalette, alt.1360m, 07/09/1995: 5♂♂, 16♀♀ -- Rioumajou Ravin du Mont (source), alt.1100m, 07/09/1995: 46♂♂, 47♀♀; 11/01/1996, 135♂♂.

D e s c r i p t i o n : Holotype 5,2 mm; la taille la plus grande observée chez les femelles a été de 7,2 mm. La coloration est rouge brun paraissant, à l'oeil nu, uniformement repartie sur l'ensemble du corps. En fait il existe une zone légèrement plus claire à la limite tergite-pleurépimère où la pigmentation est moins dense. Antennes, péréiopodes et pléopodes sont également colorés. Appareil oculaire formé d'une ommatidie pigmentée bien apparente sur l'animal vivant. L'antennule porte dix aesthétascs plus une courte épine. Le flagelle antennaire comprend 5 articles dont le second nettement plus long que les autres porte 6 aesthétascs. Les téguments sont lisses et parsemés de soies simples nettement apparentes. Chez le mâle, le tergite du péréionite I (fig. 26) porte dans sa région medio-centrale une légère fossette non visible à l'oeil nu, mais par contre assez apparente à l'examen à la loupe binoculaire, du moins chez les plus gros individus. Chez les autres il faut un examen attentif et en lumière incidente rasante pour déceler une légère dépression qui apparaît avec une réfringence différente du reste du tergite. Examiné au M.E.B. cette dépression de forme arrondie ou parfois même trilobée est tapissée de soies-écailles plus massives et plus courtes que celles qui revêtent le reste du tégument (fig. 27). Par ailleurs le bord postérieur de ce même tergite I présente sur ses parties latérales une sinuation nette. Les caractères sexuels mâles des péréiopodes se traduisent par une légère hypertrophie de la soie sterno- basale du meros V (figs. 28-29) et par le développement d'un petit tubercule à la base de la soie sterno-distale de l'ischion VI (fig. 30). Au niveau des pléopodes de la première paire (fig. 31), l'exopodite présente un bord externe fortement concave diffé-



FIGS 26-31 - *Oritoniscus aurensis.* 26: tergite I du ♂; 27: détail de la fossette; 28: méros V ♂; 29: détail de la soie sterno-basale du méros V; 30: ischion VI♂; 31: pléopodes 1♂; (clichés H. Dalens).

renciant très nettement une pointe postéro-externe et un lobe interne prolongé par une forte tige se terminant brusquement par une pointe fine.

Répartition : La répartition de cette espèce semble restreinte aux Hautes-Pyrénées et de façon plus précise au bassin versant de la vallée d'Aure depuis 760m jusqu'à 2100m d'altitude.

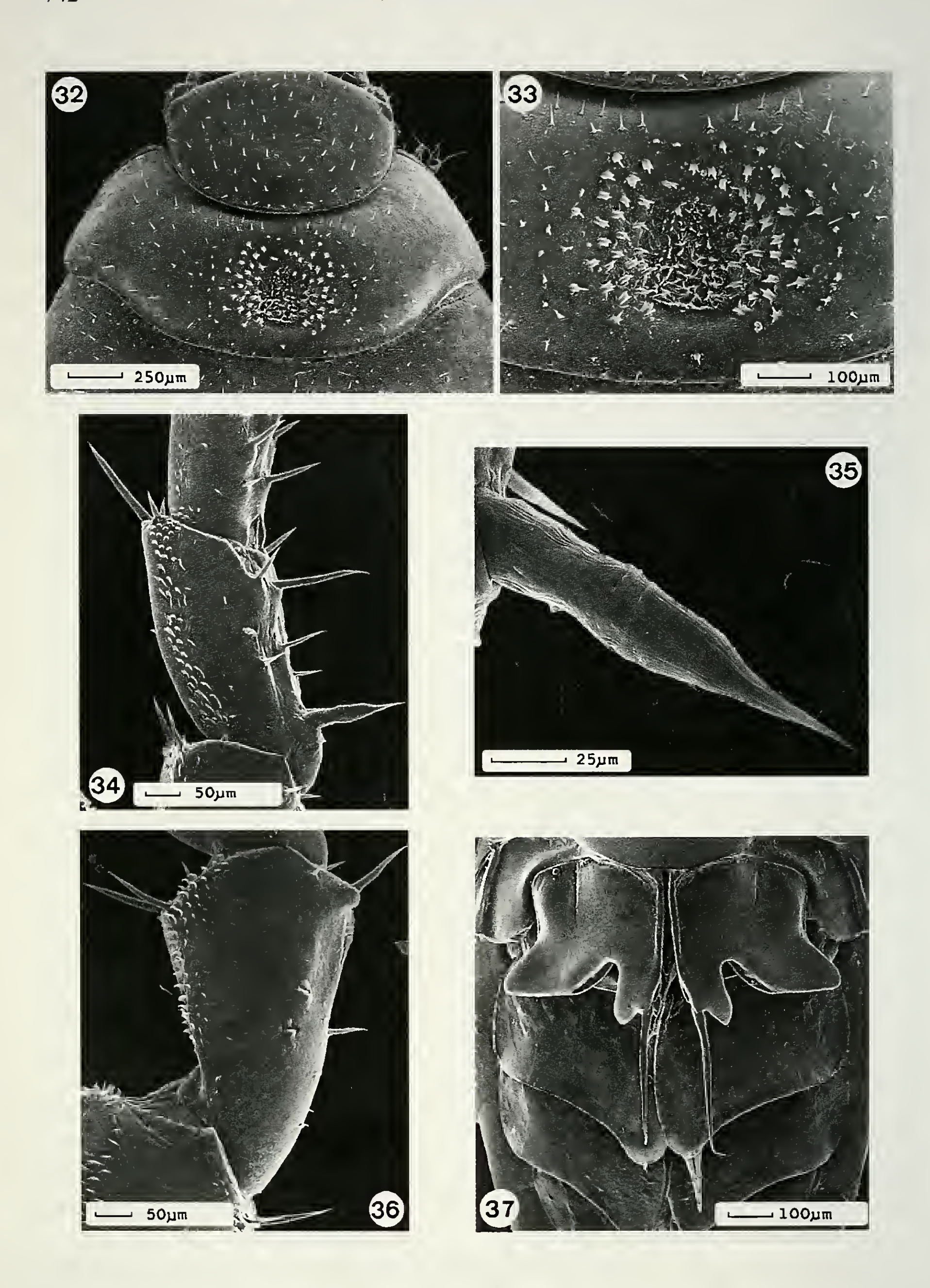
Oritoniscus baroussensis n.sp. Figs 32-37

Matériel examiné: Holotype: 1♂ (MNHN-IS 5068) ruisseau de Coureillou, Cne de Hèches (Htes-Pyrénées), alt. 1044m, 21/09/1995, Dalens & Rousset réc. dans des mousses, saxifrages et cresson pyrénéen ruisselants, sur paroi de schistes.

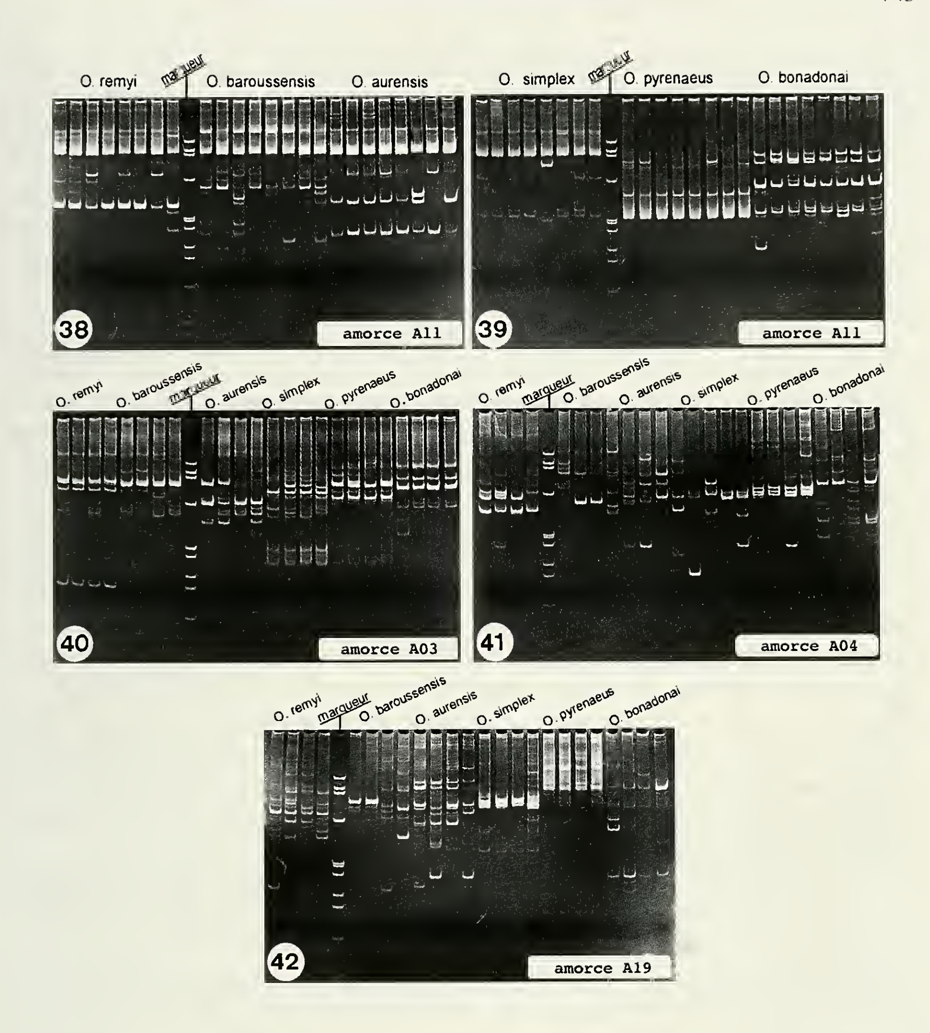
coll. Dalens: HAUTES-PYRÉNÉES: Cne de Bareilles, vallon d'Ardengost, alt.1030m, 21/09/1995: 7♂♂; Cne de Campan, route du col d'Aspin, alt.1195m, 08/10/1996: 1♂; Cne de Hèches, ruisseau de Coureillou, alt. 1044m, 21/09/1995: 38♂♂, 111♀♀; 11/01/1996: 159♂♂; Cne de Mauléon-Barousse, Pradettes, alt. 615m, 07/06/1995: 4♂♂; Cne de Nistos, Hameau de Gerlé, 11/1964: 1♂, J.P. Mauries réc.; Cne de Sost, bois de Coste Dorade (source), alt. 920m, 18/10/1994: 63♂♂; 07/06/1995: 161♂♂.

Description : Holotype de 5 mm; les tailles les plus grandes observées ont été 5,9 mm pour les mâles et 6 mm pour les femelles. Coloration lie de vin sombre et uniforme sur le vivant examiné à sec; dans l'eau l'animal apparaît plus clair mais il n'y a pas de taches blanches à la limite tergite - pleurépimère. Péréiopodes et sternites sont pigmentés, mais pas les pléopodes. Téguments lisses parsemés de soies simples nettement apparentes. L'antennule porte 9 aesthétascs apicaux plus une courte épine. Le flagelle antennaire comprend 7 articles dont le second un peu plus long que les autres possède 8 aesthétascs. Chez le mâle le tergite du péréionite I (fig. 32) montre une fossette pilifère medio-centrale et subcirculaire, très nettement visible à l'oeil nu. Examiné à fort grossissement ou au M.E.B. (fig. 33), cette fossette présente des flancs antérieur et latéraux garnis de soies écailles à trois pointes et une plage centrale plus ou moins lisse suivant les échantillons; des formations concentriques excrétoires ou tégumentaires apparaissant chez certains individus. Par ailleurs le bord postérieur de ce même tergite I surplombe en abrupt le tergite II et présente latéralement et chez le mâle uniquement deux sinuosités concaves avec dépression des téguments lesquelles pourraient correspondre à des zones sécrétoires. Les caractères sexuels mâles des péréiopodes se traduisent par une hypertrophie modérée de la soie basale et sternale du meros V (figs 34-35) et par la différenciation d'un tubercule à la base de la soie sterno-distale de l'ischion VI (fig. 36). Au niveau des pléopodes 1 du mâle (fig. 37), le bord externe de l'exopodite présente une forte concavité qui différencie un lobe postéro-externe très accusé. Le lobe interne de ce même exopodite se prolonge comme chez les espèces précédentes par une longue tige terminée par une pointe très effilée.

Répartition : Cette espèce semble essentiellement se limiter aux massifs de la Barousse et du Nistos compris entre la vallée de la Garonne à l'est et celle de la Neste d'Aure à l'ouest. Certaines populations paraissent très denses et toutes concentrées dans des milieux qui sont constamment très humides, voire même aquatiques, quoi qu'il en soit toujours avec de l'eau libre.



FIGS 32-37 - *Oritoniscus baroussensis*. 32: tergite I du ♂; 33: détail de la fossette; 34: méros V♂; 35: détail de la soie sterno-basale du méros V; 36: ischion VI♂; 37: pléopodes 1♂; (clichés H. Dalens).



FIGS 38-42 Gels de polyacrylamide (7%) contenant les fragments d'ADN amplifiés par RAPD-PCR, relatifs aux espèces *O. remyi*, *O. baroussensis*, *O. aurensis*, *O. simplex*, *O. pyrenaeus* et *O. bonadonai*. En 38-39 , 8 individus de chaque espèce traités avec l'amorce A11. En 40, 41 et 42 chaque gel montre 4 individus de chaque espèce avec des amorces différentes (A03, AO4 et A19). Marqueur : $\phi\chi$174 digéré par HaeIII, pb : 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 234, 194, 118, 72; (clichés A. Rousset).

ETUDE MOLÉCULAIRE

Polymorphisme de l'ADN génomique

- Polymorphisme intraspécifique. Dans le but de définir les relations entre des espèces d'*Oritoniscus* , dont certaines à large répartition géographique, l'amplification PCR a d'abord été utilisée pour analyser le polymorphisme de l'ADN d'individus provenant de plusieurs isolats appartenant à un même ensemble populationnel. Pour

chaque espèce (sauf *O. bonadonai* dont on ne connaît qu'une seule population) douze individus mâles ont été prélevés dans deux stations éloignées de 10 à 15 km. Cet intervalle correspond sensiblement à l'aire d'extension des deux espèces *O. baroussensis* et *O. aurensis* dans les Pyrénées Centrales.

Après amplification RAPD - PCR, les données des patterns électrophorétiques sont traitées selon deux approches méthodologiques complémentaires afin de comparer les degrés de polymorphisme présents entre ces isolats d'une population et celui existant entre les espèces.

Dans la première approche, la similitude entre les individus des différents isolats a été évaluée par la méthode UPGMA : chez *O. remyi* la distance maximale calculée entre les individus des deux isolats est de 0,037 alors que la distance interspécifique est de 0,105; chez les autres espèces ces valeurs sont respectivement : 0,068 et 0,091 chez *O. baroussensis*; 0,055 et 0,091 chez *O. aurensis*; 0,054 et 0,114 chez *O. simplex*; 0,048 et 0,114 chez *O. pyrenaeus*. Ceci se traduit sur un phénogramme (non montré) d'une part, par un mélange des individus des deux isolats dans chacune des espèces et d'autre part, par une séparation stricte de ces mêmes espèces. Le tableau 1 donne les résultats statistiques de la seconde approche qui utilise l'indice de dissimilarité APD : dans une espèce donnée, cet indice et l'erreur standard sur la moyenne (ES) sont calculés pour chaque isolat et pour l'ensemble des individus de l'espèce; l'utilisation du test non-paramétrique de Mann et Whitney met en évidence le fait qu'il n'y a aucune différence statistique dans les taux de polymorphisme entre les isolats d'une même espèce. Ainsi les résultats obtenus par ces deux méthodes concourent à montrer que les échantillons provenant de différentes populations d'une même espèce ne sont pas différenciables par les marqueurs moléculaires utilisés. Le polymorphisme ainsi détecté est bien représentatif de l'espèce.

- *Polymorphisme interspécifique*. - Pour chacune des 6 espèces, le polymorphisme génétique a été étudié chez 8 individus mâles prélevés dans une même station à forte densité de population: *O. remyi*: forêt Boucheville (66), *O. baroussensis*: ruisseau de Coureillou (65), *O. aurensis*: Bordères-Louron (65), *O. simplex*: Bielle (64), *O. pyrenaeus*: Col de Marie-Blanque (64), *O. bonadonai*: grotte des chauves-souris , Draguignan (83).

Les figures 38 à 42 montrent les profils électrophorétiques obtenus avec les 4 amorces selectionnées. L'amorce A11 (fig 38-39) permet de distinguer facilement les espèces les unes des autres et certaines bandes semblent caractéristiques de l'espèce, le polymorphisme intraspécifique est faible; il est bien plus élevé dans les profils générés par les amorces A03 (fig 40) A04 (fig 41) et surtout A19 (fig 42). L'intensité de ce polymorphisme est également variable selon les espèces, pour une même amorce : les individus des espèces *O. baroussensis* et *O. aurensis* montrent une bien plus grande variabilité (déjà indiquée sur le tableau 1: APD > 20%) , alors que, dans l'ensemble , les individus d' *O. pyrenaeus* sont bien plus semblables entre eux.

Pour évaluer le polymorphisme génétique, chez les 48 individus des 6 espèces, 114 bandes d'ADN bien amplifiées par les .4 amorces précitées ont été utilisées. Le phénotype (1 - 0 = présence - absence) de chaque individu à chaque locus est renseigné

Isolats	A. P. D. (%)	E. S.	M. W.
O. remyi Fenouillet (66)	6,8	1,4	ΔNS
O. remyi Vira (66)	9,4	1,8	
O. remyi (F + V)	7,7	0,8	
O. baroussensis Hèches (65)	21,5	2,9	ΔNS
O. baroussensis Sost (65)	24,8	3,6	
O. baroussensis (H + S)	21,5	1,6	
O. aurensis Bordères-Louron (65)	19,2	2,7	ΔNS
O. aurensis Saint-Lary (65)	14,5	2,6	
O. aurensis (BL + SL)	18,8	1,3	
O. simplex Bielle (64)	16,7	2,4	ΔNS
O. simplex Aucun (65)	19,2	2,7	
O. simplex (B + A)	17,6	1,3	
O. pyrenaeus Bielle (64)	10,7	1,8	ΔNS
O. pyrenaeus Bilhères (64)	15,1	2,9	
O. ovrenaeus (Bielle + Bilhères)	12,1	1,1	

TABLEAU 1 - Résumé statistique de la dissimilarité intra- et interpopulation chez *O. remyi*, *O. baroussensis*, *O. aurensis*, *O. simplex* et *O. pyrenaeus* (pour une localisation précise des populations, se reporter aux paragraphes «Matériel examiné» des espèces citées). **A.P.D.** = indice de dissimilarité (en pourcentage), **E.S.** = erreur standard, **M.W.** = Test de Mann et Whitney, Δ **NS** = différence non significative, au seuil de 5%, entre les isolats de chacune des espèces.

dans une matrice de données qui est ensuite analysée par les programmes informatiques précédemment mentionnés (RAPDPLOT et ensemble PHYLIPS 3.5c). Il en résulte la construction d'un phénogramme (fig. 43) qui montre qu'il y a regroupement des individus de chaque espèce et que toutes les espèces sont clairement séparées. L'espèce *O. bonadonai* se singularise très rapidement des 5 autres; puis *O. simplex* et *O. pyrenaeus* se séparent d'un autre groupe comprenant *O. remyi*, *O. baroussensis* et *O. aurensis*; ces deux dernières espèces restent très proches l'une de l'autre bien que parfaitement distinctes.

DISCUSSION

Un travail portant sur l'écologie, la répartition et l'évolution des espèces épigées du genre *Oritoniscus* fera l'objet d'une prochaine publication. Il ressort déjà des travaux de VANDEL (1960) que l'évolution de l'ensemble des espèces du genre *Oritoniscus* se fait au travers d'une complexification progressive des pléopodes 1 et 2 du

mâle, elle-même corrélative d'une différenciation de plus en plus poussée des péréiopodes mâles. Dans le cadre de ce schéma, la simple analyse morphologique de ces six espèces met en évidence trois groupes. Le premier correspond à un degré d'évolution et de différenciation des caractères sexuels secondaires mâles quasiment nul. Hormis la présence des pléopodes de la première paire du mâle, il est très difficile, voire impossible de séparer les individus de sexe mâle de ceux de sexe femelle. Ce groupe ne comprend à ce jour que la seule espèce *O. bonadonai* qui est sans conteste l'espèce épigée la plus primitive. Même l'exopodite 1 du mâle est celui qui des six espèces étudiées est le moins différencié, avec un bord externe assez régulier ne montrant pratiquement pas de pointe postéro-externe. Il se trouve que de surcroît cette espèce est aussi géographiquement très isolée de toutes les autres. Le deuxième groupe correspond à des espèces dont les pléopodes 1 du mâle sont nettement plus différenciés au niveau des exopodites qui présentent une pointe postéro-externe. Par ailleurs, les caractères sexuels secondaires mâles sont très affirmés au niveau de la soie sternale et basale du méros V. Par contre les tergites I sont absolument semblables dans les deux sexes. Se rattachent à ce groupe *O. simplex* et *O. pyrenaeus*. Cette dernière espèce est toutefois nettement plus évoluée que la première en ce qui concerne l'exopodite 1 mâle qui présente un lobule postéro-externe séparé du reste du corps de l'appendice et un tubercule à l'angle sterno-distal de l'ischion VI mâle, alors qu'*O. simplex* montre un exopodite 1 entier et une absence de tubercule à l'ischion VI. Le troisième groupe, rassemble des espèces qui présentent une évolution apparemment moins poussée au niveau de la soie sterno-basale du méros V, mais dont le tergite I du mâle montre par contre une fossette glandulo-pilifère plus ou moins différenciée. A cet égard, *O. baroussensis* semble être la forme la plus évoluée tant par le degré de différenciation de sa fossette, que par la sinuosité marquée des extrémités latérales du bord postérieur du tergite I. *O. aurensis* semble être une espèce très proche, y compris géographiquement, et très affine d'*O. baroussensis*: sinuosité déjà marquée du bord postérieur du tergite I et même degré d'évolution du tubercule sterno-distal de l'ischion VI. Même si chez l'adulte les fossettes glandulo-pilifères sont très dissemblables, leur architecture de base reste assez semblable et chez le jeune immature il est sur ce caractère très difficile de séparer les deux espèces. Bien qu'ayant chez l'adulte une fossette glandulo-pilifère très nettement différenciée, *O. remyi* paraît un peu plus éloigné des deux espèces précédentes. Le jeune immature a déjà une fossette qui permet de le reconnaitre et par ailleurs la sinuosité du bord postérieur du tergite I du mâle est très peu marquée, contrairement à *O. aurensis* ou *O. baroussensis*. Par ailleurs, le tubercule basal de la soie sterno-distale de l'ischion VI est absent chez *O. remyi* alors qu'il est bien présent chez les deux autres espèces.

Pour ce qui est de l'analyse moléculaire, les marqueurs RAPD sont apparus comme des outils utiles dans les études de population et de taxonomie chez les Crustacés. GARCIA *et al.* (1994) détectent par cette méthode un haut degré de polymorphisme chez *Penaeus*. Chez *Macrobrachium borellii* la mesure de la distance génétique (d'AMATO & CORACH 1996) permet l'estimation de la diversité génétique des populations. C'est au moyen de l'analyse par RAPD-PCR du génome que BADARACCO *et al.* (1995) ont pu discriminer dans le genre *Artemia*, non seulement des populations,

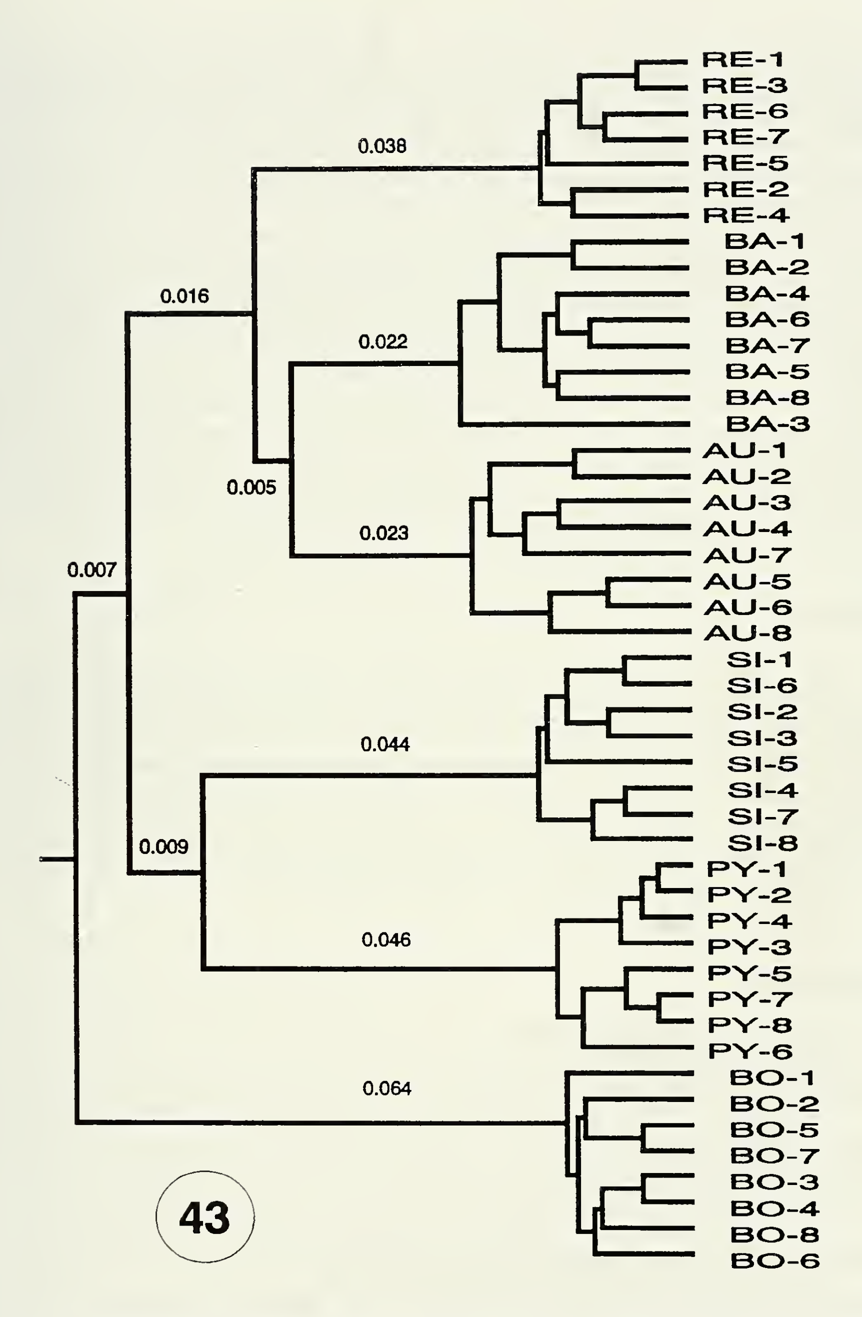


FIG 43 - Phénogramme relatif aux relations décelées entre les individus des espèces *O. remyi* (RE1 à RE8), *O. baroussensis* (BA1 à BA8), *O. aurensis* (AU1àAU8), *O. simplex* (SI1 à SI8), *O. pyrenaeus* (PY1 à PY8) et *O. bonadonai* (BO1 à BO8) établi d'après un polymorphisme généré par RAPD-PCR et traité par la méthode UPGMA. Les distances entre noeuds sont indiquées.

mais également des espèces très proches les unes des autres. Dans notre précédent travail nous avions mis en évidence la congruence des approches morphologiques et moléculaires chez trois espèces d'*Oritoniscus* et, du fait d'une analyse sur des populations sympatriques, démontré leur indépendance en tant qu'espèces. Chez les 6 autres espèces du groupe des *Oritoniscus* épigés étudiés dans cette note, l'analyse du polymorphisme génomique nous permet de montrer d'une part que le taux de polymorphisme intraspécifique est bien moindre que le polymorphisme entre les espèces; et d'autre part que les distances génétiques peuvent être appréciées et donner lieu à la construction d'un phénogramme interspécifique où on retrouve les trois groupes définis par les critères morphologiques. Ce phénogramme montre la disjonction immédiate de l'espèce *O. bonadonai* qui correspond au premier groupe selon les critères morphologiques (caractères les moins évolués). Il y a également concordance quant au groupe *O. simplex* - *O. pyrenaeus*. Dans le troisième groupe les données moléculaires confirment les distinctions établies d'après les critères morphologiques: d'une part, en séparant *O.remyi* des deux autres espèces *O. baroussensis* et *O. aurensis* et d'autre part, en démontrant l'étroite parenté génétique de ces deux dernières espèces.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les autorités du Parc National des Pyrénées et tout particulièrement Monsieur J.P. Besson pour les autorisations de prélèvements qui leur ont été délivrées. Nos remerciements vont également à Messieurs A. Franco et Th. Javelle du Spéléo Club du Var pour l'aide qu'ils nous ont apporté dans la recherche et la prospection de grottes et de cavités du Var. Les auteurs tiennent par ailleurs à indiquer que ces travaux se sont pour une large part inscrits et financés dans le cadre du projet européen CEE n° EV5V-CT94-0435 "High Endemism areas, Endemic biota and the Conservation of Biodiversity in Western Europe"

REFERENCES

ARCANGELI, A. 1935. Isopodi terrestri di caverne della Spagna (Collezione del Museo di Storia Naturale di Madrid). *Eos* 10: 171-195.

BADARACCO, G., M. BELLORINI, N. LANDSBERGER 1995. Phylogenetic study of bisexual *Artemia* using random amplified polymorphic DNA. *Journal of Molecular Evolution* 41: 150-154.

CRUZ, A. 1992. Isopodos terrestres de la coleccion del Museu de Zoologia de Barcelona (Crustacea,Oniscidea). *Miscellaua Zoologica* (1991) 15: 81-102.

DALENS, H. 1964. Description d'une nouvelle espèce de Trichoniscide, *Oritoniscus remyi*. *Bulletin de la Société d'Histoire naturelle de Toulouse* 99 (1-2): 286-288.

DALENS, H. 1973. Notes sur la répartition de l'Isopode terrestre *Oritoniscus remyi*. *Bulletin de la Société d'Histoire naturelle de Toulouse* 109 (1-2): 142-144.

DALENS, H., A. ROUSSET & D. FOURNIER 1996. Les formes épigées du genre *Oritoniscus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). I. Le complexe *Oritoniscus flavus*. *Revue suisse de Zoologie* 103 (3): 623-641.

D'AMATO, M.E., D. CORACH 1996. Genetic diversity of population of the fresh-water shrimp *Macrobrachium borellii* (Caridea: Palaemoniidae) evaluated by RAPD analysis. *Journal*

of Crustacean Biology 16: 650-655.

GARCIA, D.K., M.A. FAGGART, L. RHOADES, A.A. ALCIVAR-WARRREN, J.A. WYBAN, H.C. WILLIAM, J.N. SWEENEY & K.M. EBERT 1994. Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 270-280.

GILBERT, D.A., N. LEHMAN, S.J. O'BRIEN & R.K. WAYNE 1990. Genetic fingerprinting reflects population differentiation in the California Channel Island fox. *Nature* 344: 764-767.

LEBRETON, B. & J.P. BESSON 1984. Faune cavernicole du département des Landes. *In*: SOUSSIEUX, Ph.: *Les Landes souterraines*, Mont-de-Marsan, p. 238-246.

NEI, M. & W.H. LI 1985. Mathematical model for studing genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science* USA 76: 5269-5273.

RACOVITZA, E.G. 1907. Isopodes terrestres (Première Série). *Biospéologica, IV. Archives de Zoologie expérimentale et générale* 7: 145-225.

RACOVITZA, E.G. 1908. Isopodes terrestres (Seconde Série). *Biospéologica IX. Archives de Zoologie expérimentale et générale* 9: 239-415.

SCHMOLZER, K. 1971. Die Landisopoden des Iberischen Halbinsel. *Monografias de Ciencia Moderna* (80), C.I.S.C. Edit., 161pp.,10 cartes h.t.

VANDEL, A. 1933. Liste des espèces de Trichoniscidae (Crustacés,Isopodes) signalées jusqu'ici en France, comprenant la description de plusieurs espèces nouvelles. *Archives de Zoologie expérimentale et générale* 75 (2e volume jubilaire): 35-54.

VANDEL, A. 1948. Espèces nouvelles d'Isopodes terrestres cavernicoles et endogés (Espèces françaises, nouvelles ou peu connues, de Trichoniscidae. 4e Note). *Notes biospéologiques* 2: 7-27.

VANDEL, A. 1960. Isopodes terrestres (Première Partie). *Faune de France* 64: 416pp. Lechevallier, Paris.

YUHKI, N. & S.J. O'BRIEN 1990. DNA variation of the mammalian major histocompatibility complex reflects genomic diversity and population history. *Proceedings of the National Academy of Science* USA 87: 836-840.